



(12) PATENT

(19) NO

(11) 326404

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.

A61K 9/107 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	19981021	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	1996.09.04 PCT/SE96/01097
(22)	Inng.dag	1998.03.09	(85)	Videreføringsdag	1998.03.09
(24)	Løpedag	1996.09.04	(30)	Prioritet	1995.09.12, SE, 9503143
(41)	Alm.tilgj	1998.03.09			
(45)	Meddelt	2008.11.24			
(73)	Innehaver	AstraZeneca AB, Västra Mälarehamnen 9, 15185 SÖDERTÄLJE, SE			
(72)	Oppfinner	Christian von Corswant, c/o AstraZeneca R & D Mölndal, 43183 MÖLNDAL, SE			
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO			

(54)	Benevnelse	Mikroemulsjoner, fremgangsmåte for fremstilling derav, samt slike mikroemulsjoner for bruk som et medikament
(56)	Anførte publikasjoner	EP 0334777 A1 EP 0391369 A2 GALLARATE, M. et al.; 1993. Microemulsions containing lecithin and bile salts: evaluation of the role of bile salts as co-surfactant by partial least squares regression analysis, S.T.P Pharma Sciences, 1993, Vol.3, no.5, pp 413-418.
(57)	Sammendrag	

Ikke-toksisk olje-i-vann- eller bikontinuerlig mikroemulsjon som et vehikkel for administrasjon av én eller flere aktive forbindelser som har en lav oppløselighet i vann hvilken mikroemulsjon inneholder: en polar fase inneholdende vann og eventuelt et middel for oppnåelse av isotoniske betingelser, og én eller flere komponenter (modifikasjonsmidler) for justering av polariteten til den polare fasen; et modifikasjonsmiddel for film av overflateaktivt middel, en ikke-polar fase bestående av minst én farmasøytisk akseptabel olje; og en blanding av et hydrofilt overflateaktivt middel og et hydrofobt overflateaktivt middel i en mengde opp til 15 vekt-% av den totale mikroemulsjonen, hvor det hydrofobe overflateaktive middelet er valgt fra gruppen bestående av lecitin, sfingolipider eller galaktolipider.

Foreliggende oppfinnelse vedrører en ikke-toksisk olje-i-van- eller bikontinuerlig mikroemulsjon benyttet som et vehikkel for administrasjon av en eller flere forbindelser som har lav oppløselighet i vann, samt en fremgangsmåte for fremstilling derav. Mikroemulsjonen kan brukes som et medikament som administreres parenteralt, oralt eller transdermalt.

Et formål med foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe et vehikkel som øker oppløseligheten av forbindelser som har en lav oppløselighet i vann samtidig som det er ikke-toksisk.

Mange av de nye farmasøytisk aktive substansene som fremstilles i dag har en meget lav oppløselighet i vann. Dette kan være et problem ved administrasjon, spesielt når en substans skal administreres parenteralt, for eksempel intravenøst, intraperitonealt, intraarterielt, intramuskulært eller subkutant. I disse tilfellene er det nødvendig med et vehikkel som øker den aktive forbindelsens oppløselighet. Oppløseligheten i vann må ofte økes fra 1.000 ganger til 10.000 ganger for å nå rimelige administrasjonsvolumer. Systemene som benyttes i dag er:

- oppløsningsmidler som det er mulig å blande med vann, slik som propylenglykol, polyetylen glykol, etanol, osv.
- overflateaktive midler som danner aggregat hvori de uoppløselige substansene kan oppløses, for eksempel etoksylert ricinusolje, blandede miceller av lecitin + gallederter;
- polyetylenoksyd-derivater av sorbitanmonoestere, -diestere og -triestere;
- kompleksdannende midler slik som cyclodekstriner;
- emulsjoner, for eksempel soyabønneolje + egglecitin.

Alle disse systemene har forskjellige ulemper. Oppløsningsmidler som det er mulig å blande med vann, krever høye konsentrasjoner for å være effektive. Den oppløseliggjørende evnen til de overflateaktive midlene og det kompleksdannende midlet er ofte utilstrekkelig. Emulsjoner er termodynamisk ustabile og også ikke-transparente hvilket gjør det vanskelig å avgjøre om den aktive substansen er fullstendig oppløst eller ikke. Mikroemulsjoner er derimot termodynamisk stabile blandinger som dannes spontant uten noen tilføring av ekstern energi, for eksempel mekanisk omrøring, oppvarming,

ultrasonifikasjon osv. Mikroemulsjoner er også transparente hvilket gjør dem overlegne i forhold til vanlige emulsjoner for bruk som vehikler for administrasjon av farmasøytisk aktive forbindelser.

- 5 Et formål med foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe en mikroemulsjon som benytter minimale mengder av overflateaktive midler for bruk som et vehikkel egnet for parenteral samt oral og transdermal administrasjon av en eller flere farmasøytisk aktive forbindelser.

- 10 Nyttevirkningen med en mikroemulsjon er den høye oppløselighetsevnen og det faktum at den er både termodynamisk stabil og gjennomskinnelig. I EP 211 258 beskrives et preparat som betegnes en «olje-i-vann-mikroemulsjon» for parenteral administrasjon, og som består av farmasøytisk akseptable lipider, lipofile legemidler og blandinger derav, og et fosforlipid-emulgeringsmiddel i en vandig fase. Her oppnås imidlertid
15 mikro-emulgeringen ved bruk av mekanisk energiinntak, dvs. dråpestørrelse-reduksjon via mikrofluidisering. Dette er ikke en mikroemulsjon ifølge den vanlige definisjonen for mikroemulsjoner - «a microemulsion is defined as a system of water, oil and amphiphile which is a single optically isotropic and thermodynamically stable liquid solution» (Danielsson, I., Lindman, B., Colloids and Surfaces, 1981, 3, s. 391). En olje-
20 i-vann-mikroemulsjon for parenteral administrasjon er beskrevet i FR 2 553 661. Denne mikro-emulsjonen inneholder et ionisk overflateaktivt middel og en alifatisk polyol eller en aromatisk alkohol som har minst 4 karbonatomer som et ko-overflateaktivt middel. I eksempelet i dette skriftet er forholdet lipofil fase:overflateaktivt middel 1:1. I WO 92/18147 beskrives en vann-i-olje-mikroemulsjon som lett omdannes
25 til en olje-i-vann-emulsjon eller -mikroemulsjon ved tilsetning av vandig fluid. Denne mikroemulsjonen inneholder et hydrofilt, vannoppløselig aktivt stoff. Det er imidlertid sannsynligvis umulig å benytte en så liten mengde overflateaktivt middel som angitt i referansens krav fordi det er et behov for en viss type av middel som modifierer det overflateaktive middelet for å nedsette mengden av overflateaktivt middel. Videre, US
30 4.712.239 beskriver multikomponentsystemet for bruk i farmasøytiske produkter, hvilke systemer omfatter olje, et ikke-ionisk overflateaktivt middel med en hydrofil-lipofil balanse over 8 og et ko-overflateaktivt middel som er en partiell eter eller ester av en polyhydroksyl-alkohol og en (C₆₋₂₂) fettalkohol eller -syre. En vandig fase blir eventuelt benyttet og det terapeutiske middelet kan være lipofilt eller hydrofilt. Slike
35 systemer angis å gi forbedrede transdermale avleveringsegenskaper. I eksempel 1 inneholder formuleringer X og XI isopropanol hvilket gjør formuleringene uegnet for parenteral administrasjon. Videre skal det påpekes at i eksempel 1, formulering I, er

forholdet for triglycerid av middels kjedelengde til de partielle kapryl-kaprinsyre glycerolestrene 1:1,5. WO 93/02664 beskriver også en mikroemulsjon, men den er i form av en vann-i-olje-mikro-emulsjon. Den innbefatter blant annet et vannoppløselig terapeutisk middel. I EP 334.777 omtales en mikroemulsjon for parenteral eller oral administrasjon av kosmetika eller farmasøytika, bestående av én polar og én lipid fase og som anvender en blanding av overflateaktive midler basert på polyetylenglykol og polyglycerol. Mengden av overflateaktive midler må være over 15 vekt-% for å oppnå en mikroemulsjon ifølge definisjonen ovenfor.

10 Ingen av referansene som representerer tidligere teknikk beskriver en ikke-toksisk mikro-emulsjon som er egnet for parenteral administrasjon av substanser som har en lav oppløselighet i vann, hvilken mikroemulsjon enten kan være i form av en olje-i-vann-mikroemulsjon eller en bikontinuerlig mikroemulsjon og som også er lett å fremstille. Det er således et behov for et nytt vehikkel som har de ovenfor angitte egenskaper.

15 Formålet med foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe et farmasøytisk akseptabelt ikke-toksisk vehikkel som øker oppløseligheten til forbindelser som har en lav oppløselighet i vann, og hvilket vehikkel er i form av en mikroemulsjon som er stabil, gjennomskinnelig og egnet for parenteral samt oral og transdermal administrasjon av én eller flere aktive forbindelser.

Mikroemulsjonen er definert i medfølgende krav 1 og ytterligere foretrukne utførelser av oppfinnelsen er beskrevet i medfølgende krav 2 - 16.

25 Oppfinnelsen tilveiebringer videre en fremgangsmåte for fremstilling av mikroemulsjonen som er som definert i medfølgende krav 17.

Ifølge foreliggende oppfinnelse beskrives en mikroemulsjon til bruk som et medikament som er egnet for parenteral samt oral og transdermal administrasjon av én eller flere aktive forbindelser. Dette er definert i medfølgende krav 18-21. Det har overraskende blitt funnet at ved bruk av minst to typer av modifierende midler, er det mulig å minimalisere mengden av det overflateaktive middelet og således blir toksisiteten også minimalisert.

35 Foreliggende mikroemulsjon omfatter:

- et modifikasjonsmiddel for film av overflateaktivt middel,
- en ikke-polar fase bestående av minst én farmasøytisk akseptabel olje, og

- en blanding av et hydrofilt overflateaktivt middel og et hydrofob overflateaktivt middel i en mengde opp til 15 vekt-% av den totale mikroemulsjonen, hvor det hydrofobe overflateaktive middelet er valgt fra en gruppe bestående av lecitin, sfingolipider eller galaktolipider.

5

Den polare fasen innbefatter vann og eventuelt et middel for oppnåelse av isotoniske betingelser, for eksempel en NaCl- eller glyceroloppløsning. Den polare fasen innbefatter også forbindelse/forbindelser som nedsetter den polare fasens polaritet og således senker mengden av overflateaktivt middel. Disse forbindelsene betegnes

10 modifikasjonsmidler. Eksempler på modifikasjonsmidler er: polyetylen glykol 400 (PEG 400), polyetylen glykol 300 (PEG 300), polyetylen glykol 200 (PEG 200); propylenglykol; glukofurol (polyetylen glykol tetrahydrofurfuryleter); glycerol; sorbitol; mannitol; monosakkarider; disakkarider; dimetylacetamid; solketal; metylpyrrolidon; 1-hydroksyetyl-2-pyrrolidon eller hydroksyetyllaktamid. Foretrukne modifikasjonsmidler

15 er én eller flere av følgende: polyetylen glykol 400 (PEG 400), polyetylen glykol 300 (PEG 300), polyetylen glykol 200 (PEG 200); propylenglykol; glukofurol; glycerol; sorbitol; mannitol; monosakkarider eller disakkarider. Mer foretrukne modifikasjonsmidler er én eller flere av de følgende: polyetylen glykol 400 (PEG 400), polyetylen glykol 300 (PEG 300), polyetylen glykol 200 (PEG 200); propylenglykol; glukofurol og

20 glycerol. Mest foretrukket modifikasjonsmiddel er forbindelsen PEG 400.

Modifikasjonsmiddelet for film av overflateaktivt middel vil bli delvis inkorporert i den polare delen av den overflateaktive filmen og derved både øke arealet pr. lipid polar hodegruppe, og således endre lipidlagenes spontane krumning fra å være litt buede mot

25 vann til å bli mer plane eller buede mot olje, og nedsette stabiliteten til den lamellære, krystallinske væskefasen. Modifikasjonsmiddelet for film av overflateaktivt middel er fortrinnsvis etanol, men C₃-alkoholer kan også være nyttige i tilfellet for transdermal administrasjon.

30 Den ikke-polare fasen består av minst én farmasøytisk akseptabel olje som kan være et triglycid inneholdende fettsyrer med 4 - 18 karbonatomer; en diester av propylenglykol inneholdende fettsyrer med 4 - 18 karbonatomer; en monoester av en fettsyre inneholdende en alkoholisk del bestående av 1 - 5 karbonatomer og en fettsyre med 8 - 22 karbonatomer eller blandinger derav.

35

Den ikke-polare fasen består fortrinnsvis av et triglycid inneholdende minst 70% fettsyrer med 8 - 10 karbonatomer; en diester av propylenglykol inneholdende minst

70% fettsyrer med 8 - 10 karbonatomer; eller en monoester av en fettsyre slik som isopropylmyristat, isopropylpalmitat eller etyloleat eller blandinger derav. Mer foretrukket består den ikke-polare fasen av et triglycerid inneholdende minst 70% fettsyrer med 8 - 10 karbonatomer; en diester av propylenglykol inneholdende minst 5 70% fettsyrer med 8 - 10 karbonatomer eller av isopropylmyristat. Mest foretrukket består den ikke-polare fasen av enten et triglycerid inneholdende minst 70% fettsyrer med 8 - 10 karbonatomer eller isopropylmyristat.

Det hydrofobe overflateaktive middelet er ett av lecitin, sfingolipider og galaktolipider. 10 Mest foretrukket er det hydrofobe overflateaktive middelet rensset soyabønnelecitin, omfattende minst 90% fosfatidylkolin. Det ikke-ioniske hydrofile overflateaktive middelet kan være etoksylert ricinusolje; etoksylerte fettstere; sukkrosefettstere; mono-, di- og triestere av sorbitol og sorbitan og polyoksyetylenderivater derav; alkylglukosider eller alkylpolyglukosider; etoksylert monohydroksystearinsyre og 15 gallsalter. Det hydrofile overflateaktive middelet er fortrinnsvis polyetylenglykol (15)-12-hydroksystearat, et alkylmaltosid, gallsalter eller blandinger derav.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer både en olje-i-vann-mikroemulsjon og en bi-kontinuerlig emulsjon. Ved å endre forholdet mellom den polare og den ikke-polare 20 fasen og også mengden av modifikasjonsmidlene blandet med vannet i den polare fasen, er det mulig å oppnå en mikroemulsjon enten i en olje-i-vann-type eller bikontinuerlig type. Mikroemulsjonen ifølge foreliggende oppfinnelse kan benyttes for oppløseliggjøring av aktive forbindelser for intravenøs, intraperitoneal eller intra-arteriell administrasjon. Den kan også anvendes for preparater av aktive forbindelser som har en lav 25 oppløselighet i vann for subkutan, intramuskulær eller transdermal administrasjon. En ytterligere anvendelse av mikroemulsjonen kan være oppløseliggjøring og forøket absorpsjon av aktive forbindelser som har en liten oppløselighet i vann ved oral administrasjon.

30 Den aktive forbindelsen kan være en protonpumpeinhibitor, kalsiumkanalblokker, β -blokker, anestetikum, steroid, antioksydasjonsmiddel, renininhibitor, alkaloid, cytostatika, anti-koagulerende middel, lipidregulerende middel, anti-depressivt middel, neuroleptikum, immunosuppresjonsmiddel, immunomodulator, antibiotikum, anti-inflammatorisk middel.

Fremstilling

Mikroemulsjonen kan fremstilles ved sammenblanding av komponentene i en ikke spesiell rekkefølge og blandingen får likevekt-innstilles i typisk to eller tre dager.

- Likevektsinnstillingsprosedyren kan forkortes ved forsiktig oppvarming av blandingen til ca. 40°C, og omrøring eller rysting av blandingen ved regelmessige intervaller. Det skal påpekes at det kan være at den optimale konsentrasjonen av modifikasjonsmidlene må optimaliseres for forskjellige satser av soyabønnelecitin og også for forskjellige aktive forbindelser.

- 10 Oppfinnelsen illustreres mer detaljert av følgende eksempler.

Eksempel 1

Følgende komponenter ble sammenblandet i en liten glassflaske:

- 15 **1a**

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200 ¹	0,28	7,0
	Soluthol HS15 ²	0,196	4,9
Vandig fase	vann	1,11	27,8
	PEG 400 ³	0,456	11,4
	etanol (99,5%)	0,196	4,9
Olje fase	Miglyol 810 ⁴	1,76	44,0

1b

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200 ¹	0,7	7,0
	Soluthol HS15 ²	0,49	4,9
Vandig fase	vann	1,66	16,6
	PEG 400 ³	0,685	6,85
	etanol (99,5%)	0,293	2,93
Olje fase	Miglyol 810 ⁴	6,17	61,7

1c

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200 ¹	0,28	7,0
	Soluthol HS15 ²	0,196	4,9
Vandig fase	0,9% NaCl	1,11	27,8
	PEG 400 ³	0,456	11,4
	etanol (99,5%)	0,196	4,9
Olje fase	Miglyol 810 ⁴	1,76	44,0

1d

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200 ¹	0,70	7,0
	Soluthol HS15 ²	0,49	4,9
Vandig fase	0,9% NaCl	1,66	16,6
	PEG 400 ³	0,685	6,85
	etanol (99,5%)	0,293	2,93
Olje fase	Miglyol 810 ⁴	6,17	61,7

¹ Epicuron 200 er en rensset soyabønnelecitin produsert av Lucas Meyer, Tyskland.

² Soluthol HS15 er et polyoksyetylenglykol(15)-12-hydroksystearat produsert av BASF, Tyskland.

³ PEG 400 er polyetylenglykol med gjennomsnittlig molekylvekt på 400 g/mol.

⁴ Miglyol 810 er et triglycerid med følgende fordeling av fettsyrer langs kjedelengden ifølge produsenten: C_{6:0} = 2% maks., C_{8:0} = 70-80%, C_{10:0} = 18-28%, C_{12:0} = 2% maks.

- 10 Den lille glassflasken ble forseglet og blandingen rystet ved bruk av en virvelblander i et gitt antall minutter og deretter holdt i et vannbad mens temperaturen ble holdt konstant ved 37°C i 2 dager. Flasken ble rystet ved bruk av virvelblander to eller tre ganger om dagen. Etter to dager viste blandingen seg som en transparent, svakt viskøs enfase-væske. Blanding ble holdt ved 25°C i 1 uke og viste ingen tegn på fase-
- 15 separering. Prøven ble testet gjennom visuelt utseende og bruk av krysspolariserte filtre for å detektere eventuelle tegn på krystallinske væskefaser. Temperaturen ble hevet til 37°C og prøven ble undersøkt etter to dager ved bruk av samme prosedyre uten noen tegn på fase-separering. Prøven ble deretter holdt ved romtemperatur og undersøkt ved regelmessige intervaller og stabiliteten var minst 6 måneder.

20

Eksempel 2

Følgende komponenter ble blandet sammen i en liten glassflaske:

2a

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200	0,120	30
	Soluthol HS15	0,240	6,0
Vandig fase	vann	1,274	31,8
	PEG 400	0,385	9,6
	etanol	0,165	4,1
Olje fase	isopropylmyristat	1,828	45,6

2b

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200	2,8	2,8
	dodecylmaltocid	0,2	1,2
Vandig fase	vann	38,17	38,17
	glukose	9,58	9,58
	etanol	10,08	10,08
Olje fase	isopropylmyristat	38,17	38,17

2c

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200	4,9	4,9
	dodecylmaltocid	2,1	2,1
Vandig fase	vann	35	35
	glukose	10	10
	etanol	13	13
Olje fase	isopropylmyristat	35	35

2d

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200	6,5	6,5
	Na-taurokolat	1,0	1,0
Vandig fase	vann	39,25	39,25
	PEG 400	7,0	7,0
	etanol	7,0	7,0
Olje fase	isopropylmyristat	39,25	39,25

2e

Komponent	Sammensetning	Mengde (g)	Vekt-%
Overflateaktive midler	Epicuron 200	6,5	6,5
	Na-taurokolat	1,0	1,0
Vandig fase	vann	38,75	38,75
	etanol	7,0	7,0
Olje fase	isopropylmyristat	39,25	39,25

Blandingen ble likevektsinnstilt ifølge fremgangsmåten i eksempel 1 og etter to dager viste blandingen seg som en transparent, svakt viskøs enfase-væske. Blandingen ble holdt ved 25°C i 1 uke og viste ingen tegn på fase-separering. Prøvene ble testet gjennom visuelt utseende og ved bruk av krysspolariserte filtere for å detektere eventuelle tegn på krystallinske væskefaser. Temperaturen ble hevet til 37°C og prøven ble undersøkt etter to dager ved bruk av samme prosedyre uten noen tegn på fase-separering.

10

Eksempel 3

Det ble fremstilt en mikroemulsjon ifølge eksempel 1 og oppløseligheten til to tungt oppløselige stoffer, felodipin (etylmetyl-4-(2,3-diklorfenyl)-1,4-dihydro-2,6-dimetyl-3,5-pyridindikarboksylat) og cis-4b,5,9b,10-tetrahydro-4b,7,9,9b-tetrametyl-8-etoksyindeno(1,2-b)indol, i det følgende betegnet indenoindolen, ble testet. Det ble tilsatt forskjellige mengder av stoffene til 1 ml prøver av mikroemulsjonen anbrakt i små glassflasker. Prøvene ble rotert i 48 timer for å oppnå en fullstendig fukting av det faste stoffet. Prøvene ble deretter holdt i et vannbad ved 25°C i minst en uke før inspeksjon. Prøvene ble inspisert med henblikk på eventuelt faststoff eller fase-separering og maksimumsoppløseligheten ble definert som området mellom den siste prøven i hver serie uten noe spor av faste stoffer eller fase-separering, og den første prøven med gjenværende og uoppløst stoff eller en fase-separering.

25

Tabell 1

Oppløselighet for felodipin og indenoindolen i en mikroemulsjon fremstilt ifølge eksempel 1.

	Oppløselighet i vann mg/l	Oppløselighet i mikroemulsjon 1a mg/l	Oppløselighet i mikroemulsjon 1b mg/l
Felodipin	0,8	5.000-10.000	10.000-15.000
Indenoindolen	2,0	40.000-50.000	60.000-75.000

5

Eksempel 4

Effekten av en mikroemulsjon ifølge eksempel 1a på forskjellige farmakologiske parametre i bevisste rotter ble sammenlignet med en 50% PEG 400/vann oppløsning ved bruk av saltoppløsning som en kontroll.

10

Biologisk effekt**Eksperimentell prosedyre og materiale****15 Dyr**

Voksne, Sprague-Dawley hannrotter fra Danmark ble benyttet. Etter ankomst til Astra Hässle AB fikk dyrene anledning til å aklimatisere seg i minst en uke før inngrep. De ble holdt i standard rottebur med poppelflis-underlag i et rom med regulert temperatur (20 - 22°C, fuktighet (50 - 70%) og med en 12/12 timers lys/mørke-sykel. Dyrene hadde fri adgang til pellets og til ledningsvann fra begge flasker.

20

Kirurgi

Dagen før forsøkene ble dyrene bedøvet med methohexital natrium (Brietal, Lilly, Indianapolis, Ind. USA) 60 mg/kg i.p. og kateteret ble innført i høyre halsvene (PE 25 i i.v. - legemiddelinjeksjoner) og halearterien (8 cm lang PE 10 forbundet med PE 90 for blodtrykksregistreringer). Spissen på arteriekateteret ble plassert i abdominalaorta under renalarterier. ECG-elektroder ble anbrakt under huden over apeks og høyre skulder, og grunnelektrodene ble plassert over lumbalryggsøylen. Dette tilsvarer en CR-registrering. Etter den kirurgiske prosedyren ble dyret anbrakt alene i et bur i et

25

rom med regulert fuktighet, temperatur og lys/mørke syklus. Rottene ble også forbundet med et svivelsystem (Carnegie, Stockholm, Sverige), som leverte 1,0 ml steril saltoppløsning pr. time via arterietrykkledningen.

5 Hemodynamiske og ECG-registreringer:

Dagen etter den akutte kirurgiske prosedyren ble forsøkene utført med den bevisste rotten som oppholdt seg i sitt eget bur. Halearteriekateteret ble forbundet via en svivel som sørget for at dyret kunne bevege seg relativt fritt. Arterietrykkateteret ble for-
10 bundet med en trykktransducer. Kateteret ble holdt åpent ved langsom infusjon av 1,0 ml NaCl/t via et siderør i arterietrykkledningen. Siderøret var et 60 cm langt PE 10-
kateter, som har en høy indre resistens. Siderøret demper således ikke arteriepuls-
slagene. Hjertevirksomhet (HR) ble målt fra det udempede arterietrykksignalet med en
15 hjerteslagmåler, og gjennomsnittlig arterietrykk (MAP) ble oppnådd ved elektronisk
filtrering. Parametrene fra 4 dyr ble fremvist samtidig på en Grass-polygraf (modell 7
D). ECG-elektrodene var forbundet intermitterende til en Grass (7P6) ECG-forfor-
sterker. ECG ble registrert på en kalibrert Siemens Elema Inkjet-registrator.

Det gjennomsnittlige arterietrykket og hjerteslagsignalene ble matet til en Data-
20 translation (DT 2801) AD-konverter anordnet i en Compaq 386SX-datamaskin.
Datamaskin-programmet PC-LAB (skrevet av Jan Axenborg og Ika Hirsch, AB Astra
Hässle) samlet verdier for arterietrykk og hjerteslag gjentatte ganger under forsøkene
forløp. Programmet samlet arterietrykk og hjerteslag i 20 s og beregnet de gjennem-
snittlige verdiene for hver 20 s periode en gang hvert minutt i løpet av de 4,5 t med
25 forsøk (dvs. blandet en fil med 285 verdier av de individuelle parametrene fra 3 - 4
rotter samtidig).

I tillegg samlet PC-LAB programmet ECG fra alle 4 rotter 8 ganger i løpet av forsøks-
forløpet (se Fig. 1). ECG-signaler ble samlet ved 800 Hz i 4s, dvs. ca. 20 ECG-sykler
30 fra hver rotte ble lagret i datamaskinhukommelsen. Denne datalisten av prøvetagninger
fra 4 rotter ble deretter overført til en VAX-datamaskin ved AB Astra Hässle og ble
analysert med PC-LAB-programmet (skrevet av Jan Axenborg). PC-LAB-programmet
beregnet en gjennomsnittlig ECG-verdi fra ca. 20 sykler. Den andre syklusen er trigger-
syklusen og er benyttet for alle beregningene. Fra den gjennomsnittlige ECG-verdien
35 ble PQ-tiden og QRS-varigheten beregnet i millisekunder.

Eksperimentelle prosedyrer.

Den eksperimentelle prosedyren er illustrert på Fig. 1. Forsøket ble foretatt på 3 forskjellige vehikler.

5

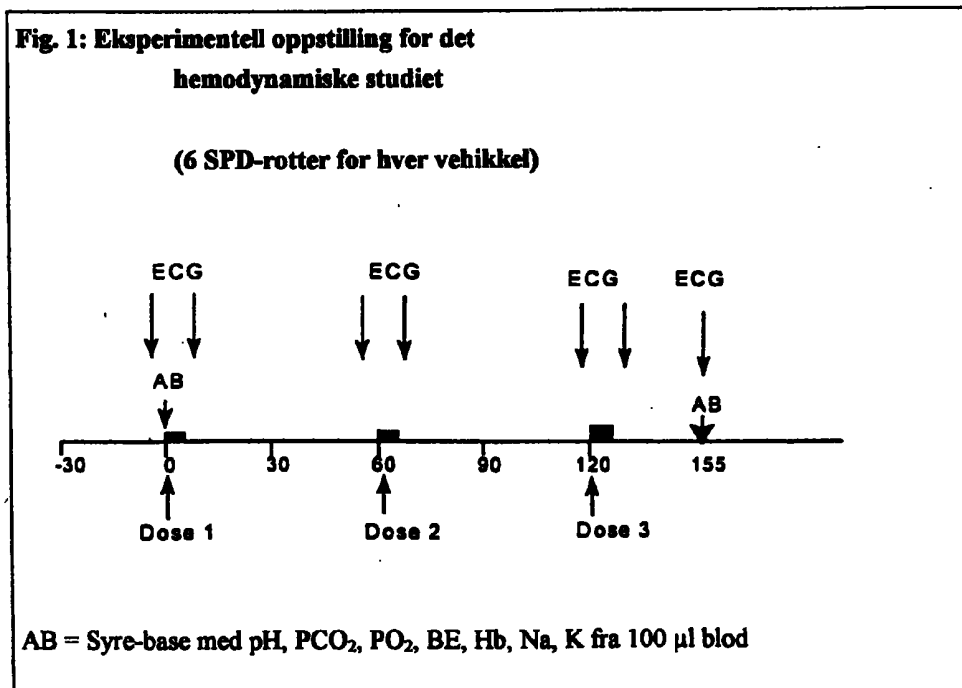
De grunnleggende hemodynamiske parametrene ble registrert i 30 min. (se Fig. 1). Deretter mottok dyrene 3 infusjoner av nevnte vehikkel gitt i løpet av 5 min. Volumet var 0,3, 1 og 3 ml/kg for saltoppløsning og PEG 400 og 0,15, 0,5 og 1,5 ml/kg for mikroemulsjonen. Infusjonene ble gitt 60 min. fra hverandre.

10

Blodprøver for syre-base-balanse- og blodgass-bestemmelser ble oppnådd to ganger (før den første dosen og ved slutten av forsøket).

ECG ble oppnådd ved intervaller vist på Fig. 1.

15



BEREGNINGER OG STATISTIKK

Arterieblodtrykk og hjerteslagdata

Dataene for hvert dyr ($n = 6$ for alle forsøk med unntagelse av hjerteslagdata for PEG 400 (50%) hvor $n=5$) ble normalisert ved bruk av gjennomsnittet av de tre første datapunktene som en basislinje og avviket fra denne basislinjen for hvert datapunkt ble beregnet. De to vehiklene ble sammenlignet ved å beregne gjennomsnittsforskjellen mellom hver vehikkel (PEG 400 (50%) eller mikroemulsjon) og kontrollen (saltoppløsning). Det ble beregnet et 95% konfidensintervall ved bruk av de samlede variansene og t-fordelingen, idet det ble sørget for kompensering i forbindelse med etter hverandre følgende målinger ved hjelp av Bonferoni-teknikken for datapunktene umiddelbart etter hver infusjon.

ECG, syre-base-balanse, blodgasser og plasmalektrolytter

Resultatene er angitt som gjennomsnittsverdier og variabiliteten er uttrykt som SEM ($n=6$).

RESULTATER OG KONKLUSJONER

En mikroemulsjon ifølge eksempel 1a ble sammenlignet med en 50% vandig oppløsning av PEG 400 som er et ko-oppløsningsmiddel som ofte anvendes for intravenøs administrasjon. Saltoppløsning ble benyttet som en kontroll. Resultatene er vist i tabeller 1 - 3. Dataene viser at det ved intravenøs infusjon til bevisste rotter er mulig å administrere en mikroemulsjon ifølge eksempel 1a i en mengde opp til 0,5 ml/kg uten å forårsake noen signifikant effekt på syre-base-balanse, blodgasser, plasmalektrolytter, hjertevirksomhet eller PQ-tid. Det er en signifikant, men meget liten, nedgang i arterieblodtrykket umiddelbart etter den andre dosen, men dette anses ikke å ha noen biologisk relevans.

Ved den høyeste dosen, 1,5 ml/kg (mikroemulsjon) og 3,0 ml/kg (PEG 400 (50%)), var effekten av mikroemulsjonen og PEG 400-oppløsningen meget lik. En liten økning i arterieblodtrykk, kun for mikroemulsjonen, og en moderat bradikardisk effekt sammen med en midlertidig forlengelse av PQ-tiden for begge vehikler.

Oppløseligheten til felodipin og indenoindolforbindelsen benyttet i eksempel 3 i PEG 400 (50%) er henholdsvis 0,7 mg/ml og 0,2 mg/ml. Ved bruk av mikroemulsjonen er det således mulig å administrere 5 ganger mer felodipin og over 100 ganger mer av indenoindolforbindelsen sammenlignet med en 50% oppløsning PEG 400.

Mikroemulsjonen er overraskende overlegen sammenlignet med PEG 400-oppløsningen for oppløseliggjøring og administrasjon av forbindelser med lav oppløselighet i vann.

Tabell 2 PQ-tid (msek.)

Tid (min):	29	36	59	66	119	126	155
Saltoppløsning:	45,8	43,7	45,3	45,5	46,0	45,1	47,0
SEM:	0,99	0,86	0,86	0,68	1,02	0,40	0,95
PEG 400	45,3	45,3	44,7	46	44,2	51	46,3
(50%):							
	1,42	1,48	1,57	1,51	1,37	2,11	1,71
Mikroemulsjon	46,2	47,3	46,5	49	44,5	51	44,5
SEM:	1	0,68	1,04	0,98	1,1	1,77	0,81

Tabell 3. Syre-base balanse, blodgasser og plasmælektrolytter.

	pH	pCO ₂ (kPa)	pO ₂ (kPa)	BE (mmol/l)	Na (mmol/l)	K (mmol/l)
Tid (min)	0	155	0	155	0	155
Saltopløsning	7,49	4,45	12,13	2,73	142,83	3,47
SEM	0,01	0,18	0,12	0,62	0,75	0,40
PEG 400 (50%)	7,47	4,37	11,93	0,83	143,67	3,00
SEM	0,01	0,09	0,24	0,59	0,88	0,14
Mikro-emulsjon	7,47	4,91	11,48	3,12	141,50	3,32
SEM	0,01	0,23	0,62	1,09	1,18	0,27

P a t e n t k r a v

1.

- Ikke-toksisk olje-i-vann- eller bikontinuerlig mikroemulsjon som et vehikkel for administrasjon av en eller flere aktive forbindelser som har en lav oppløselighet i vann, k a r a k t e r i s e r t v e d at mikroemulsjonen inneholder
- en polar fase inneholdende vann og eventuelt et middel for oppnåelse av isotoniske betingelser, og én eller flere komponenter for justering av polariteten til den polare fasen,
 - 10 - et modifikasjonsmiddel for film av overflateaktivt middel, som er en alkohol med 2-3 karbonatomer,
 - en ikke-polar fase bestående av minst én farmasøytisk akseptabel olje, og
 - opp til 15 vekt-% av den totale mikroemulsjonen av en blanding av et hydrofilt overflateaktivt middel og et hydrofobt overflateaktivt middel, hvor det hydrofobe
 - 15 overflateaktive middelet er valgt fra en gruppe bestående av lecitin, sfingolipider eller galaktolipider.

2.

- Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at
- 20 komponenten for justering av polariteten til den polare fasen er én eller flere av

- a) polyetylenglykol, dvs. polyetylenglykol 200, polyetylenglykol 300 eller polyetylenglykol 400; propylenglykol; glukofurol; glycerol eller én eller flere av
- 25 b) sorbitol, mannitol; monosakkarider; disakkarider eller én eller flere av
- c) dimetylacetamid; solketal; metylpyrrolidon; 1-hydroksyetyl-2-pyrrolidon eller hydroksyetyllaktamid.

30 3.

- Mikroemulsjon ifølge krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at
- komponenten for justering av polariteten til den polare fasen er én eller flere av

- a) polyetylenglykol; propylenglykol; glukofurol; glycerol; eller én eller flere av
- 35 b) sorbitol; mannitol; monosakkarider eller disakkarider.

4.

Mikroemulsjon ifølge krav 2 eller 3, k a r a k t e r i s e r t v e d at komponenten for justering av polariteten til den polare fasen er polyetylenglykol 400.

5

5.

Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at middelet for oppnåelse av isotoniske betingelser er en oppløsning av NaCl eller glycerol.

10

6.

Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at modifikasjonsmiddelet for film av overflateaktivt middel er etanol.

15

7.

Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at den farmasøytisk akseptable oljen i den ikke-polare fasen er et triglycerid inneholdende fettsyre med 4 - 18 karbonatomer; en diester av propylenglykol inneholdende fettsyrer med 4 - 18 karbonatomer; en monoester av fettsyre inneholdende en alkoholisk del bestående av 1 - 5 karbonatomer eller en fettsyredel med 8 - 22 karbonatomer, eller blandinger derav.

20

8.

Mikroemulsjon ifølge krav 7, k a r a k t e r i s e r t v e d at den farmasøytiske akseptable oljen i den ikke-polare fasen er et triglycerid inneholdende minst 70% fettsyrer med 8 - 10 karbonatomer; en diester av propylenglykol inneholdende minst 70% fettsyrer med 8 - 10 karbonatomer; en monoester slik som isopropylmyristat, isopropylpalmitat, etyloleat eller blandinger derav.

30

9.

Mikroemulsjon ifølge krav 8, k a r a k t e r i s e r t v e d at den farmasøytisk akseptable oljen i den ikke-polare fasen er et triglycerid inneholdende minst 70% fettsyrer med 8 - 10 karbonatomer; isopropylmyristat eller blanding derav.

35

10.

Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det hydrofobe overflateaktive middelet er rensset soyabønnelecitin omfattende minst 90% fosfatidylkolin.

5

11.

Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det hydrofile overflateaktive middelet er etoksyliert ricinusolje; etoksylierte fettestere; sukrosefettestere; mono-, di- og triestere av sorbitol eller sorbitan og
10 polyetylenderivater derav, alkylglukosider eller alkylpolyglukosider, etoksyliert monohydroksy stearinsyre; gallesalter eller blandinger derav.

12.

Mikroemulsjon ifølge krav 11, k a r a k t e r i s e r t v e d a t
15 det hydrofile overflateaktive middelet er polyetylen glykol(15)-12-hydroksystearat, alkylmaltosid, gallesalter eller blandinger derav.

13.

Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t
20 mengden av overflateaktivt middel er 4 - 12 vekt-% av den totale mikroemulsjonen.

14.

Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t
den er en olje-i-vann-mikroemulsjon.

25

15.

Mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t
den aktive forbindelsen er et farmasøytikum.

30

16.

Mikroemulsjon ifølge krav 15, k a r a k t e r i s e r t v e d a t
den aktive forbindelsen er en protonpumpe-inhibitor, kalsiumkanal-blokker, beta-
blokker, anestetika, steroid, antioksidasjonsmiddel, renininhibitor, alkaloid, cytostatika,
antikoaguleringsmiddel, lipidregulerende middel, antidepressjonsmiddel, neuroleptikum,
35 immunosuppressjonsmiddel, antibiotikum eller et anti-inflammatorisk middel.

17.

Fremgangsmåte for fremstilling av en mikroemulsjon ifølge krav 1, k a r -
a k t e r i s e r t v e d at komponentene sammenblandes i ingen
spesiell rekkefølge og blandingen får likevektinnstilles i typisk en eller to dager,
5 hvorved likevektsinnstillingsprosedyren kan forkortes ved forsiktig oppvarming av
blanding, ca. 40°C og omrøring eller rysting av blandingen ved regelmessige
intervaller.

18.

10 Mikroemulsjon ifølge et hvilket som helst av kravene 1 - 16 for bruk som et
medikament.

19.

15 Mikroemulsjon ifølge krav 18 for bruk som et medikament for parenteral
administrasjon.

20.

Mikroemulsjon ifølge krav 18 for bruk som et medikament for oral administrasjon.

20 21.

Mikroemulsjon ifølge krav 18 for bruk som et medikament for transdermal
administrasjon.